

产地表示怀疑。后来用近红外积分球漫反射法测定其近红外光谱图, 带入中国红参与进口红参以及国产红参和合资品牌红参的近红外模型中进行分析, 确定这个样品属于合资品牌的产品。与检验者预先的判断一致。

本研究采用近红外光谱技术在红参类药材鉴别研究中的应用进行了尝试, 通过非入侵方式获得了药材的内在成分信息, 应用判别分析法进行分类, 结果准确可信。表明本方法适用于红参高丽参药材

的分类, 能快速准确地鉴别高丽参, 显示了将近红外光谱技术应用于中药鉴别分析及产地判别的良好前景。但由于受实验的样本数量和时间的限制, 仍有大量的模型验证和检验工作等待完成。

参考文献:

- [1] 张 聪, 王智华, 金德庄. 中国红参与高丽红参的指纹谱 (HPLC-FPS) 比较研究 [J]. 中成药, 2001, 23(3): 160-163.
- [2] Woo Y A, Kim H J, Cho J H. Identification of herbal medicines using pattern recognition techniques with near-infrared reflectance spectra [J]. *Micromol Chem J*, 1999, 63: 61-70.

HPLC 法测定半枝莲中二萜类生物碱 scutebarbatine B

涂琪顺^{1,2}, 蔡光明^{1*}, 何 群², 岳鹏飞¹, 鄢 丹¹, 杜 群^{1,2}

(1. 中国人民解放军第 302 医院 全军中药研究所, 北京 100039; 2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410002)

摘 要: 目的 建立 HPLC 法测定半枝莲药材中二萜类生物碱 scutebarbatine B 的方法。方法 色谱柱为 YMC Japan J sphere ODS-H80 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水 (70 : 30) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 264 nm。结果 二萜类生物碱 scutebarbatine B 的线性范围是 0.021 2~ 0.212 μg (r = 0.999 2); 平均回收率为 100.69%; RSD 为 1.82%。结论 该定量分析方法简便快速, 稳定可靠, 重现性好, 回收率高, 可用于半枝莲药材的质量控制与检验。

关键词: 半枝莲; scutebarbatine B; HPLC

中图分类号: R 282.6; R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0280-03

半枝莲为唇形科黄芩属植物半枝莲 *Scutellaria barbata* D. Don 的干燥全草。其主要生物活性表现在抗肿瘤, 抑菌, 抗病毒和免疫调节等方面^[1-3]。《中国药典》2005 年版中半枝莲药材虽有总黄酮及黄酮类成分的定量控制标准, 但现代药理研究认为, 二萜类生物碱成分具有抗肿瘤、抗病毒等作用^[4,5], 系该药材中另一类重要的有效成分。曾报道了半枝莲中二萜类生物碱 scutebarbatine B 的分离和鉴定^[6]。本研究采用 HPLC 法测定半枝莲中二萜类生物碱 scutebarbatine B, 并进行了方法学考察, 为进一步开发与研究半枝莲这一药用植物资源提供可行的定量分析方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (G1311A 四元泵, G1322A 脱气机, G1315B DAD 检测器, HP chem station 化学色谱工作站) (美国安捷伦公司), AL 204 mettler Toledo 分析天平 (瑞士), 色谱柱 (YMC Japan J sphere ODS-H80 150 mm × 4.6

mm, 5 μm)。

半枝莲分别购自北京绿野药材有限公司、河南省确山县中药材收购站、安徽省临泉县药材供应站、湖北省枣阳市枣南地产药材购销部、湖北省新州县中药材公司, 经解放军 302 医院肖小河研究员鉴定为唇形科黄芩属植物半枝莲 *S. barbata* D. Don 的干燥全草。scutebarbatine B 对照品为外购, 经 UV、IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 确证结构, 经 HPLC 归一化法测定质量分数大于 98%, 符合定量要求。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验: 色谱柱: YMC Japan J sphere ODS-H80 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (70 : 30); 检测波长: 264 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温: 室温 (30)。理论塔板数按 scutebarbatine B 峰计算, 不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取 scutebarbatine B 对照品 13.25 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇 10

收稿日期: 2007-05-30

作者简介: 涂琪顺 (1983-), 男, 湖南长沙人, 硕士, 研究方向为中药制剂。Tel: (010) 66933324 E-mail: tuqishun@163.com

* 通讯作者 蔡光明 Tel: (010) 66933323 E-mail: cgm1004@vip.sina.com

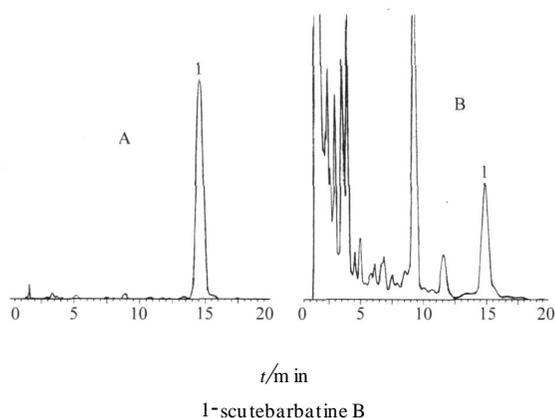


图 1 scutebarbatine B 对照品(A)和半枝莲样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of scutebarbatine B reference substances (A) and *S. barbata* sample (B)

mL 超声溶解, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。用 1 mL 移液管精密移取 1 mL 溶液于 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液 (每 1 mL 含 scutebarbatine B 0.106 mg)。

2.3 供试品溶液的制备: 取过 3 号筛的半枝莲药材粉末 2.0 g, 精密称质量, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 加甲醇 30 mL, 称定质量, 加热回流提取 2 h, 放冷, 用甲醇补足损失质量, 摇匀。取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察: 吸取 scutebarbatine B 对照品储备液, 稀释成 2.12、5.30、10.60、15.90、21.20 μg/mL 溶液, 分别进样 10 μL, 测定峰面积。以峰面积 (Y) 为纵坐标, 溶液质量浓度 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为: $Y = 408.68 X - 457.61$, $r = 0.9992$, 表明 scutebarbatine B 在 0.0212~0.212 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, scutebarbatine B 峰面积 RSD 为 1.13% ($n = 6$)。

2.6 重现性试验: 取同一批样品, 制备 6 份供试品溶液, 各进样 10 μL 测定, 结果 6 份样品中 scutebarbatine B 质量分数 RSD 为 1.84%。

2.7 稳定性试验: 取同一试品溶液, 于配制后 0、2、4、8、12、24 h 分别进样 10 μL, 依法测定 scutebarbatine B 峰面积, 结果 RSD 为 1.75%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 加样回收率试验: 取同一批 6 份样品 (含 scutebarbatine B 0.107 mg/g) 约 1.0 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 分别精密加入 scutebarbatine B 对照

品 (0.106 mg/mL) 1.0 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 平均回收率为 100.69%, RSD 为 1.82%。

2.9 样品测定: 分别精密称取各来源产地供试品 2.0 g, 制备供试品溶液, 进样测定峰面积, 外标法计算, 结果见表 1。

表 1 半枝莲中 scutebarbatine B 的测定 ($n = 3$)

Table 1 Determination of scutebarbatine B in *S. barbata* ($n = 3$)

来源	scutebarbatine B/%
北京绿野	0.0115
河南确山	0.0106
安徽临泉	0.0102
湖北枣阳	0.0085
湖北新州	0.0087

3 讨论

3.1 供试品溶液提取工艺筛选: 半枝莲中 scutebarbatine B 的量较低, 所以对半枝莲干燥药材设计正交试验提取条件, 考察项目包括提取溶媒 (水、甲醇、乙醇)、粉碎度 (干燥药材、过 3 号筛的粗粉、过 5 号筛的细粉)、提取方法 (回流提取、索氏提取、超声提取), 结果表明, 以甲醇经回流提取粗粉效果最好。又考察了提取时间对提取效率的影响: 提取时间分别进行了 1、2、3 h 的考察, 2、3 h 所测得 scutebarbatine B 的量已无差别, 说明已提取完全, 故确定最佳提取条件为: 甲醇回流提取 2 h, 样品处理简单, 目标成分的量最高。

3.2 检测波长的确定: 实验中共考察了 210、264、282、320、400 nm 波长, 结果表明, 210 nm 波长下, 溶剂吸收峰较高, 282、320 nm 波长色谱峰数目少, 检测波长为 264 nm 色谱峰数目多, 峰型好, 所以选定 264 nm 为检测波长。

3.3 试验结果表明, 不同来源产地半枝莲中二萜类生物碱成分 scutebarbatine B 的量存在较大差异。北京绿野药材有限公司的药材中该成分的量最高, scutebarbatine B 作为二萜生物碱类化合物, Dai 等^[6]从半枝莲中分离出了多种二萜类生物碱成分, 由于其结构相似, 给分离鉴定过程带来了一定难度, 本实验在其研究的基础上, 从中选择量最高的成分 scutebarbatine B 作为测定的对照品, 为研究半枝莲总生物碱类成分及其相关制剂提供了质量评价依据。

参考文献

[1] Lee T K, Kim D I, Ong Y L, et al. Differential inhibition of *Scutellaria barbata* on HCG-2 promoted proliferation of cultured uterine leiomyoma and myometrial smooth muscle cells [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2004, 26(3): 329-

- 342.
- [2] Lee T K, Lee D K, Kim D I, *et al.* Inhibitory effects of *Scutellaria barbata* on human uterine leiomyoma smooth muscle cell proliferation through cell cycle analysis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(3): 4472-4541.
- [3] Sato Y, Uzaki S, Nishikawa T, *et al.* Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 72(3): 4832-4881.
- [4] 汤新铭, 孙桂芝. 乌头碱抑瘤及抗转移的研究与治癌的观察 [J]. 北京中医杂志, 1986(3): 27-28.
- [5] 王景毅, 车金峰. 乌头注射液治疗肝癌临床疗效分析 [J]. 黑龙江中医药, 2001(6): 29-30.
- [6] Dai S J, Tao J Y, Liu K, *et al.* Neo-Clerodane diterpenoids from *Scutellaria barbata* with cytotoxic activities [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(13): 1326-1330.

RP-HPLC 法测定番石榴叶中番石榴苷

严海^{1,2}, 王力生², 周艳林², 邹节明^{2*}

(1. 武汉大学药学院, 湖北 武汉 430072; 2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

摘要:目的 用 HPLC 法测定番石榴叶中番石榴苷的量。方法 选用 YMC-JM C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2% 磷酸溶液 (36:64), 检测波长为 257 nm, 柱温为 40。结果 番石榴苷在 0.787~11.805 μg 与峰面积具有良好的线性关系 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 99.02%, RSD 为 1.21%。结论 建立的定量方法可以用于药材的质量控制。

关键词: 番石榴叶; 番石榴苷; HPLC

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0282-02

番石榴叶为桃金娘科植物番石榴 *Psidium guajavae* L. 的干燥叶^[1], 收载于《广西药材标准》。原标准只有来源及性状鉴别, 相关报道有显微、薄层色谱鉴别^[2]以及槲皮素量的测定^[3]。槲皮素为苷元, 通常需要水解。因为重现性不理想, 国家药典委员会不提倡使用分解或降解产物做指标进行测定。因此, 本研究从番石榴叶中分离得到番石榴苷, 建立番石榴苷 HPLC 测定方法, 以便更有效地控制药材质量。

1 仪器与材料

Waters 2695 色谱仪, Waters 2996 检测器; Empower 色谱工作站。AG245 电子天平 (梅特勒-托利多公司)。超声波清洗器 (必能信上海公司)。番石榴苷对照品 (自制, 质量分数为 99.07%), 番石榴叶药材购自广西桂林药材站, 经桂林三金业股份有限公司钟小清鉴定为桃金娘科植物番石榴 *P. guajavae* L. 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性: YMC-JM C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 4 μm), 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (36:64), 检测波长 257 nm, 柱温: 40。理论板数以番石榴苷峰计不低于 4 000。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取番石榴苷对照品适量, 加甲醇制成 0.05 mg/mL 的溶液, 即得。

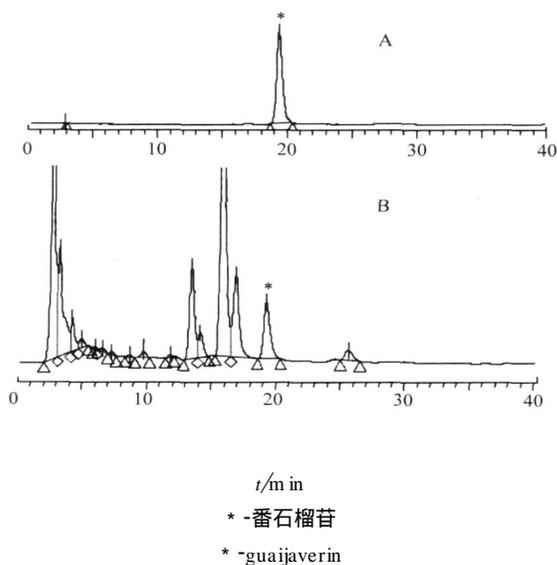


图 1 番石榴苷对照品(A)和番石榴叶药材(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of guajaverin reference substance (A) and Folium Psidii Guajavae (B)

2.3 供试品溶液的制备: 取本品粗粉 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 25 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续

收稿日期: 2007-05-09

作者简介: 严海 (1978-), 男, 武汉大学在读硕士, 研究方向为天然药物化学。

* 通讯作者 邹节明 Tel: (0773)5842588 E-mail: Sanjin@gl.gx.cninfo.net